

IAP20 Rec'd PCT/PTO 19 DEC 2005

EXTRAIT DE MACA ET COMPOSITION COSMETIQUE COMPRENANT UN
TEL EXTRAIT

- 5 La présente invention concerne un procédé d'extraction de maca, l'extrait obtenu, une composition cosmétique le contenant ainsi que son utilisation à titre d'agent cosmétique anti-âge.
- 10 Le nom botanique de la maca est le *Lepidium meyenii* Walp. Parmi ses noms vernaculaires on peut encore citer en anglais : maca, peruvian ginseng, quechua ; en espagnol : maca, maka, maca-maca et en kechua : ayak chichica, ayak willku, maka. Elle appartient à la
- 15 famille des Brassicaceae (Cruciferae) de la Tribu Lepidieae.

La maca est une petite plante herbacée de 12 à 20 cm de haut. Sa partie souterraine mesure de 2 à 5 cm. Elle

20 comprend une racine pivot surmontée de la partie basse d'un hypocotyle élargi et charnu. A l'état sec, l'ensemble rappelle la forme d'un petit navet. Pour simplifier, la partie souterraine de la plante qui constitue la fraction employée sera dénommée

25 "tubercule".

Les feuilles forment une rosette et se renouvellent depuis son centre. Les petites fleurs sont autogames. Le fruit est une petite silique (4 à 5 mm) à deux valves comprenant chacune une graine.

30

La Maca et les autres *Lepidium* sauvages botaniquement proches sont localisées jusqu'à présent dans quelques

zones montagneuses de la cordillère des Andes (Pérou, Bolivie, Equateur). Ces plantes sont capables de supporter des gelées même au cours de leur période de croissance. Considérées longtemps comme des plantes "à
5 jour court" en raison de leur habitat, des travaux relatifs à leur photopériodisme ont révélé que leur croissance est similaire dans des conditions de jours courts et de jours longs.

10 La plante présente un comportement annuel lorsque les conditions climatiques lui sont favorables (sol suffisamment humide et température tempérée). Son cycle végétatif est alors de 11 mois. Elle devient bisannuelle en climat de haute montagne en conservant
15 sa partie souterraine en dormance pendant la saison sèche.

La Maca fut probablement "domestiquée" à San Blas au Pérou, il y a 1300 à 2000 ans. Depuis, sa culture a
20 toujours été confinée aux montagnes centrales du Pérou entre 3 500 et 4 500 mètres d'altitude dans les départements du Junin et du Pasco. Les zones de culture les plus importantes sont concentrées autour du lac de Junin. Moins restreintes autrefois, elles s'étendaient
25 jusqu'à Cusco et le lac Titicaca. Dans ces contrées, les basses températures et les vents violents limitent fortement d'autres cultures en dehors de la pomme de terre.

30 La maca est actuellement cultivée dans de petites parcelles de 500 m² selon des méthodes très artisanales. Les graines sont semées au début de la

période des pluies en septembre-octobre. Les tubercules sont habituellement récoltés 8 à 10 mois après semis. La récolte commence en mai-juin. Après récolte, les tubercules sont laissés sécher au soleil pendant 6 à 15 jours. Ils seront conservés à l'abri de la lumière et de l'humidité en attendant d'être consommés. Les tubercules se conservent bien.

Les principaux résultats d'analyse de la composition chimique de la maca ont été publiés par Dini et al. en 1994 (Dini A., Migliuolo G., Rastrelli L., Saturnino P., Schettino O. Chemical composition of *Lepidium meyenii*. Food chemistry, 1994, 49, 4, pp. 347-349 (eng)) puis par Comas et al. en 1997 (Comas M., Miquel X., Arias G., de la Torre M.C. Bromatological studies on *Lepidium meyenii*. Alimentaria (Madrid), 1997, 286, pp. 85-90 (spa)) :

- humidité : 10 à 20 %
- matières minérales les plus intéressantes (mg/100 g) :
 - Potassium 1150 à 2050
 - Calcium 150 à 260
 - Fer 3 à 16
 - Cuivre 0.2 à 6
 - Zinc 1.5 à 6
 - Aluminium 3 à 7
- Glucides : 60 à 65 %
 - amidon 30 à 35 %
 - Saccharose 3 à 20 %
 - Fructose 8 à 10 %
- Glucose 3 à 7 %
- Fibres : 4 à 8 %

- Protéines : 10 à 14 %

- Lipides : 0,5 à 2 %

- 5 La maca est traditionnellement utilisée comme aliment, mais aussi pour ses propriétés thérapeutiques.

La valeur nutritive du tubercule de la maca, proche de
céréales classiquement utilisées en alimentation, en
10 fait un aliment de choix et d'intérêt majeur pour les
populations de haut plateaux péruviens.

Le tubercule de la maca est employé depuis des
centaines d'années en usage populaire à des fins
15 médicinales pour augmenter la fertilité des animaux et
des êtres humains (Leon J., The maca (*Lepidium
meyenii*), a little-known food plant of Peru. Economic
botany, 1964, 18, 2 pp. 122-127 (eng)).

Les Kallawaya, guérisseurs itinérants des Andes,
20 prescrivait aux femmes stériles désirant être
fécondées, le tubercule frais découpé en fines
rondelles, en décoction, trois ou quatre jours après
les dernières règles (Girault L. Kallawaya. Guérisseurs
itinérants des Andes. ORSTOM éd., Paris, 1984, pp. 218-
25 219 (fra)).

De nos jours, la popularité de la maca s'accroît en
raison des propriétés stimulantes et aphrodisiaques qui
lui sont attribuées. Le tubercule de la maca est
30 apparenté (abusivement en raison d'un marché potentiel
prometteur), au ginseng (*Panax ginseng*) d'où son nom de
ginseng péruvien.

Parmi les autres utilisations du tubercule figurent son intérêt en cas de troubles respiratoires (tuberculose), fatigue chronique, troubles de la mémoire, symptômes de la ménopause, en cures lors de crises rhumatismales, etc

Le but de la présente invention est de proposer un extrait de maca permettant de stimuler le métabolisme et la prolifération des fibroblastes pour prévenir et/ou lutter contre le vieillissement cutané chronologique, extrinsèque (soleil, tabac, pollution, stress) et ménopausique.

En effet, le vieillissement cutané est notamment caractérisé par une diminution du nombre, ainsi que de l'activité des fibroblastes.

En effet, la maca brute, qui se présente généralement sous la forme d'une poudre déshydratée, est quasiment insoluble dans l'eau. De ce fait, son utilisation dans les produits de soins cosmétiques est difficilement envisageable en l'état. Par ailleurs, la biodisponibilité des molécules constitutives du végétal (sels minéraux, glucides, protéines, vitamines, ...) est quasi nulle par voie cutanée.

Ainsi l'invention concerne un extrait peptidique de maca, totalement hydrosoluble, son procédé d'obtention, les compositions cosmétiques le contenant ainsi que leur utilisation en tant qu'actif anti-vieillessement.

L'extrait peptidique peut être liquide ou solide suivant si l'extrait a subi une lyophilisation ou non

en deuxième étape du procédé d'obtention.

Le vieillissement cutané peut se manifester notamment par l'affaissement des tissus, ce qui peut en particulier se traduire par une perte de tonicité et de fermeté de la peau, par la diminution de l'épaisseur et de l'élasticité de la peau, par l'apparition de taches pigmentaires de sénescence et par une perte d'éclat et d'uniformité de la peau ou encore par l'apparition de rides ou ridules.

Plus particulièrement, l'invention a pour objet un procédé de préparation d'un extrait peptidique aqueux de maca, caractérisé en ce qu'il est effectué à partir de farine de tubercules de maca broyés, en ce qu'il comprend au moins une étape d'hydrolyse enzymatique des protéines.

L'hydrolyse est de préférence enzymatique. L'hydrolyse enzymatique peut notamment être menée avec un mélange amylase et protéase. De préférence, le ratio amylase/protéase est compris entre 50/50 et 90/10 de préférence entre 75/25 et 85/15 afin de transformer la fraction protéique du végétal, en peptides hydrosolubles.

L'extrait aqueux ainsi obtenu peut ensuite être concentré pour éliminer les insolubles tels que les fibres.

Selon une variante du procédé de l'invention, l'extrait aqueux peut ensuite être purifié par ultrafiltration afin d'extraire les éventuelles traces de protéines

résiduelles. Dans ce cas, on choisira avantageusement un seuil de coupure de 10 kD de sorte à conserver les peptides présentant un poids moléculaire inférieur à 10 kD.

5

Ainsi, selon une variante préférée de l'invention, le procédé comprend les étapes suivantes :

- un lavage et un séchage sous courant d'air chaud, (par exemple à 60 °C) des tubercules de maca,
- 10 - le broyage des tubercules de maca en une farine fine,
- la mise en suspension dans l'eau de la farine, avantageusement entre 1 et 25% en poids,
- l'hydrolyse des protéines en présence d'une
15 protéase et d'une amylase par exemple dans un rapport 80/20.
- une centrifugation pour éliminer les insolubles (fibres),
- une étape d'ultrafiltration de la solution
20 (avantageusement seuil de coupure 10 kD),
- éventuellement suivie par une étape de concentration en matière sèche par diafiltration (avantageusement 100 Da) et/ou une étape d'évaporation contrôlée,
- 25 et enfin éventuellement suivie par une étape de filtration stérilisante (préférentiellement sur une cartouche de 0,2 µm).

L'invention a en outre pour objet un extrait peptidique
30 aqueux de maca susceptible d'être obtenu par le procédé décrit ci-dessus selon toutes ses variantes.

Cet extrait peptidique aqueux de maca présente avantageusement une teneur en matière sèche comprise entre 1 et 300 g/l, de préférence entre 2 et 10 g/l.

5

Par rapport à la matière sèche, la teneur en sucres réducteurs pourra être comprise entre 2 et 70 % et de préférence entre 35 et 45 %. Par sucres réducteurs on entend des sucres réactifs : ils ont la faculté de
10 donner des électrons à une molécule. On peut citer le glucose, le fructose et le maltose. Historiquement, ce terme vient de la découverte de Fehling au 19^{ème} siècle qui prouva que certains sucres réagissaient avec des ions cuivriques pour les transformer en ions cuivreux.
15 Visuellement, cette réaction dite « de réduction » s'observe par un changement de couleur de la liqueur de Fehling : au départ bleue, elle vire au rouge brique en présence de sucres réducteurs.

20 Le pH d'une solution à 20 g/l de matière sèche pourra être compris entre 5 et 8, de préférence entre 6 et 7.

De plus, l'invention a pour objet un procédé de préparation d'un extrait peptidique solide de maca, caractérisé en ce que l'extrait peptidique aqueux,
25 éventuellement concentré et/ou stérilisé est lyophilisé. On obtient autrement dit une poudre solide (extrait sec), qui présente notamment l'avantage d'être hydrosoluble, ce qui n'est pas le cas de la farine de
30 tubercule de maca originelle.

L'invention a aussi pour objet un extrait peptidique solide de maca susceptible d'être obtenu par le procédé

décrit ci-dessus.

Cet extrait peptidique solide de maca peut en outre être caractérisé par sa teneur en azote alpha aminé. Elle peut ainsi être comprise entre 2 et 70

5

De préférence, l'extrait peptidique solide de maca selon l'invention présente la composition en acides aminés suivantes (en pourcentage en poids par rapport au poids total d'acides aminés) :

10

| | |
|------------------|---------|
| Alanine | 5-9 % |
| Arginine | 15-20 % |
| Acide aspartique | 8-12 % |
| Cystine-cysteine | < 2 % |
| Acide glutamique | 9-15 % |
| Glycine | 3-7 % |
| Histidine | 1-6 % |
| Isoleucine | 2-7 % |
| Leucine | 4-9 % |
| Lysine | 3-7 % |
| Methionine | 1-5 % |
| Phenylalanine | 4, 9 |
| Proline | < 1 % |
| Sérine | 2-8 % |
| Thréonine | 1-7 % |
| Tyrosine | 1-7 % |
| Valine | 4-10 % |
| Tryptophane | < 0,5 % |

L'invention a également pour objet une composition cosmétique caractérisée en ce qu'elle comprend un

extrait peptidique aqueux ou solide de maca tel que décrit précédemment et au moins un excipient cosmétiquement acceptable.

- 5 Une telle composition cosmétique peut être notamment destinée à lutter contre le vieillissement cutané. L'invention a donc aussi pour objet une méthode de traitement cosmétique comprenant l'application d'une telle composition sur la surface cutanée d'un individu.
- 10 Enfin, l'invention a pour objet l'utilisation d'un extrait peptidique aqueux ou solide selon l'invention en tant qu'actif anti-vieillessement. Plus particulièrement, cet extrait aqueux ou solide peut être utile pour stimuler le métabolisme cellulaire à
- 15 savoir l'activité mitochondriale et notamment les fibroblastes dermiques. De même, cet extrait aqueux ou solide peut être utile pour stimuler l'énergie cellulaire. Par « énergie cellulaire » on entend le réservoir d'énergie dans lequel la cellule puise pour
- 20 réaliser l'ensemble de ses activités vitales (notamment mitose, croissance, synthèse des macromolécules, réparation de l'ADN). Enfin il peut être utile pour lutter contre les agressions extérieures de type soleil, tabac, pollution ou stress.

25

L'invention est maintenant illustrée par les exemples de réalisation décrits ci-après.

EXEMPLE 1 : préparation d'un extrait

30

10 kg de farine de maca sont dispersés dans 80 litres d'eau déminéralisée, en présence de 0,25 kg d'amylase.

Le mélange est maintenu à 50 °C, pendant 5 heures, à pH constant de 5.

5 Dans une seconde étape, 0,25 kg de protéase Alcalase® commercialisé par la société Novo Nordisk sont ajoutés. Le mélange est alors maintenu à 60°C, pendant 1 heure, à pH constant de 8.

10 Les enzymes hydrolytiques sont ensuite dénaturées par chauffage à 90°C, pendant 20 minutes.

Le mélange est centrifugé à 5500 tr/min en présence d'un adjuvant argileux de filtration puis filtré sur des toiles de 1 µm pour être clarifié.

15

Le solution récupérée est alors ultrafiltrée (seuil de coupure 10 kD), le filtrat concentré par diafiltration (10 Da) jusqu'à un titre de 10 % en matière sèche, puis filtrée stérilement (0,2 µm).

20 L'extract obtenu présente les caractéristiques suivantes :

| | |
|------------------------------|--------------------------------------|
| Aspect / Couleur | Solution limpide de coloration jaune |
| Odeur | Caractéristique |
| Matière sèche (p/p) | 10,4 % |
| pH en solution à 20g/l | 6,8 |
| Absorbance | 0,530 à 420 nm 0,093 à 550 nm |
| Composition par rapport à la | |

| | |
|---------------------|-------|
| matière sèche (p/p) | |
| Azote alpha aminé | 4 % |
| Azote total | 1,7 % |
| Sucres réducteurs | 42 % |

Profil HPLC de l'hydrolysate de farine de maca -
Répartition des masses moléculaires :

| Pic HPLC | Masse molaire moyenne (g/mol) | % relatif |
|----------|-------------------------------------|-----------|
| 1 | 1170 | 38,9 |
| 2 | 360 | 29,3 |
| 3 | 180 | 16,2 |
| 4 | 41 | 15,6 |

5

EXEMPLE 2 : Activité biologique

2-1 Effet sur des fibroblastes humains normaux

10

Matériel & Méthode

Cellule : modèle de fibroblastes humains normaux cultivés en monocouche.

15 Traitement : Les cellules ont été cultivées en l'absence (Contrôle) ou en présence de 0,1% de l'extrait peptidique obtenu à l'exemple 1.

20 Evaluation du métabolisme cellulaire : L'effet de cet extrait a été évalué par la mesure de l'activité mitochondriale (test au MTT ou 3-(4,5-diméthylthiazole-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium bromide), tous les jours pendant une semaine.

Résultats

En moyenne, l'extrait peptidique de maca à la dose de 0,1% stimule le métabolisme des fibroblastes dermiques de 20% par rapport aux cellules contrôles non traitées. La figure 1 illustre la viabilité des cellules cultivées en l'absence (Contrôle) ou en présence d'extrait peptidique de maca.

Conclusion

L'extrait peptidique de maca permet de stimuler le métabolisme cellulaire des fibroblastes dermiques.

2-2 Effet sur des fibroblastes humains vieilliss artificiellement in vitro

Modèle d'étude

Nous avons utilisé dans cette étude un modèle de fibroblastes cutanés vieilliss artificiellement in vitro, caractérisé par l'utilisation de fibroblastes issus de chirurgie plastique (femme de 26 ans), et cultivés jusqu'à des passages élevés >p15. En effet, à chaque passage ou dédoublement de population, les fibroblastes :

- a) changent d'apparence et sont plus étalés
- b) se multiplient beaucoup plus lentement en comparaison avec les mêmes fibroblastes utilisés à des passages <p5 et considérés comme « jeunes » (La figure 2 illustre la comparaison des capacités de réplication (division) de fibroblastes « jeunes » (<p5) et de fibroblastes vieilliss (>p15)).

Le vieillissement artificiel *in vitro* ou phénomène de sénescence répllicative a été mis en évidence par Léonard Hayflick en 1961 (Hayflick L and Moorhead PS. 5 The serial cultivation of human diploid cell strains. Exp Cell Res, 25 : 585-621 1961). Dans un premier temps, Hayflick a montré que les cellules ne peuvent se diviser qu'un nombre de fois limité dès lors qu'elles sont placées en culture, puis a décrit le lien possible 10 entre sénescence répllicative et vieillissement cellulaire (Hayflick L. The limited lifetime of human diploid cell strains. Exp Cell Res, 37). Les cellules disposeraient d'une horloge interne qui influencerait ou qui limiterait directement leurs capacités de 15 division. Cet arrêt programmé de la division cellulaire pourrait être lié à la perte des télomères (extrémités des chromosomes). Une correspondance acceptable entre *in vivo* (perte d'environ 50 paires de base/dédoublément cellulaire) et *in vitro* (perte d'environ 70 paires de 20 base/dédoublément cellulaire) tend à montrer que le modèle de division cellulaire *in vitro* préfigure ce qui se réalise *in vivo*.

Résultats

25 Les cellules ont été cultivées pendant 7 jours en présence ou en l'absence d'extrait peptidique de maca à la dose de 0,01%. La viabilité cellulaire a été mesurée par un test au MTT. Les résultats sont exprimés en % de croissance/au premier de jour de culture (j1) selon la 30 formule : $[(DO_{jX} - DO_{j1}) / DO_{j1}] \times 100$, avec DO = densité optique mesurée à 570 nm; j = jour de culture.

Dans ces conditions expérimentales, l'hydrolysat de maca, à la dose de 0,01%, permet d'augmenter les capacités de division des fibroblastes « jeunes » (passages<5), +35 et 40% respectivement à j4 et j7 (Figure 3A), et des fibroblastes « âgés » (>p15), +26 et 29% respectivement à j4 et j7 (Figure 3B). Les figures 3A et 3B sont annexées.

Conclusion

L'hydrolysat de maca en stimulant les capacités prolifératives des fibroblastes « âgés » peut donc compenser la diminution de la population cellulaire dermique liée à l'âge et donc s'opposer au vieillissement cutané intrinsèque.

2-3 Effet sur la production de peroxydes lipidiques dans des cellules humaines.

Le but de l'étude est d'évaluer les effets de l'extrait peptidiques de maca sur le taux de pexoxydation lipidique (PL) dans des cellules humaines (Jurkat) exposées ou non à une irradiation UVA + UVB. La mesure de PL a été réalisée en utilisant une sonde fluorescente spécifique, par la méthode de cytométrie de flux. Cette méthode présente l'avantage d'une très grande sensibilité en mesurant la fluorescence des cellules individuelles, et cela sur un grand nombre de cellules (10 000 cellules analysées par échantillon).

Matériels & Méthodes

Les cellules utilisées sont des cellules lymphoïdes humaines Jurkat réparties en plaques de 24 puis à 8.10^5 5 cellules/puits.

Le milieu de culture est le RPMI 1640 (Invitrogen 31870-025), à 37°C et en présence de 5% de CO_2 .

- 10 Le milieu d'essai est le MEM sans rouge phénol et sans sérum de veau (polylabo 5503401).

Les essais sont menés à l'aide de l'extrait peptidique obtenu à l'exemple 1, dilué deux fois, C'est-à-dire se 15 présentant sous forme d'un extrait à 5% de matière sèche. Une solution S_1 à 2% de cet extrait est préparée en milieu d'essai.

La référence utilisée est l'hydroxyanisole butylé (BHA 20 Sigma ref. B 1253) en solution à 50 μM dans l'éthanol absolu. Les essais sont menés avec une solution S_2 à 100 μM de BHA préparée en milieu d'essai.

La sonde fluorescente est la 5-N-dodecanoyl- 25 aminofluoresceïne (Free. Rad. Biol. Med., 1997, 22, 13-100) en solution à 5 μM dans l'éthanol absolu. Les essais sont menés avec une solution S_3 à 1 μM en sonde, préparée en milieu d'essai.

- 30 Les cellules humaines sont pré-incubées en milieu de culture, puis lavées en milieu d'essai. Elles sont ensuite incubées en présence de la solution S_1 de

l'extrait peptidique, ou la solution S₂ de référence.
La solution S₃ de la sonde est ajoutée à chaque lot
pour le dosage de PL

- 5 Après 45 minutes d'incubation, la sonde fluorescente
est éliminée par lavage par le milieu d'essai.

Une partie des lots est ensuite irradiée par des UVB,
une autre partie sans irradiation servant de contrôle.

10

Après 20 minutes d'incubation, les paramètres de
fluorescence sont mesurés par cytométrie de flux.

- La détermination de la quantité relative de peroxydes
15 lipidiques (PL) est basée sur la mesure de la
diminution de fluorescence de la sonde intégrée aux
membranes cellulaires. Une augmentation de signal de
fluorescence traduit une diminution du taux basal de
peroxydes lipidiques membranaires.

- 20 Les études sont réalisées en triplicate.

Résultats

- Les résultats obtenus sont exprimés par la valeur de
25 l'intensité de fluorescence et les pourcentages par
rapport au témoin sont calculés avec les valeurs de
l'intensité de fluorescence.

- Les résultats obtenus sont regroupés dans les tableaux
30 suivants :

Quantité intracellulaire relative de peroxydes
lipidiques (PL)

| Traitement | Intensité de fluorescence | Moyenne | sd | 1/intensité de fluorescence | % témoin +UV |
|--|------------------------------|---------|-------|--------------------------------|-----------------|
| Contrôle – C11/fluor | 1.16 1019 1019 | 1.18 | 0.02 | - | - |
| Contrôle - UV | 530.21 463.66 525.39 | 506.42 | 37.11 | 0.00197 | 37 |
| Témoin + UV | 198.83 172.38 186.04 | 186.42 | 13.30 | 0.00536 | 100 |
| BHA 100 µM | 362.40 368.20 393.42 | 374.67 | 16.49 | 0.00267 | 50 |
| Solution de l'extrait de l'Exemple 1 à 2% | 254.23 252.27 239.47 | 248.66 | 8.02 | 0.00402 | 75 |

5. $P < 0,01$

Quantité intracellulaire relative de peroxydes
lipidiques (PL) sans UV

| Traitement | Intensité de fluorescence (n=10000 cellules) | Moyenne | sd | 1/intensité de fluorescenc e | % témoin +UV |
|-------------------------|---|---------|-------|---------------------------------------|--------------------|
| Contrôle - C11/fluor | 1.50 1.24 1.26 | 1.33 | 0.14 | - | - |
| Contrôle - UV | 530.21 463.66 525.39 | 506 | 37.11 | 0.00197 | 100 |
| BHA 100 µM | 741.05 745.64 770.93 | 753 | 16.09 | 0.00133 | 67 |
| MC101 2% | 716.73 682.84 716.34 | 705 | 19.45 | 0.00142 | 72 |

5 $P < 0,01$

L'irradiation a diminué de façon significative.
L'intensité de fluorescence de la sonde, traduisant la
présence de réactions radicalaires au niveau des
membranes cellulaires, et donc augmentation de la
10 quantité de PL.

L'antioxydant de référence BHA testé à 100 µM a inhibé significativement la perte de fluorescence due à l'irradiation de 50% par rapport au témoin, en présence d'UV.

5

L'extrait peptidique selon l'invention a diminué significativement la quantité de peroxydes lipidiques aussi bien en absence d'UV (diminution de 72% par rapport au témoin) qui en présence d'UV (diminution de 75% par rapport au témoin).

10

Conclusion

En empêchant la formation de radicaux libres, l'extrait peptidique de maca permet de contrer un des facteurs importants du vieillissement cutané que constitue la formation d'espèces oxygénées réactives.

15

EXEMPLE 3 : exemple de formulation cosmétique crème anti-âge.

20

Crème anti-âge

25

| | |
|----------------------------------|---------|
| Aqua | QSP 100 |
| Isononyl Isononanoate | 7,00 |
| Di-C12-13 Alkyl Malate | 7,00 |
| Isocetyl Stearate | 5,00 |
| Butylene Glycol | 3,00 |
| Extrait peptidique de maca | |
| Aqueux préparé selon l'exemple 1 | 2,00 |
| Dicaprylyl Ether | 2,00 |

30

21

| | | |
|----|-----------------------|------|
| | Silanediol Salicylate | 2,00 |
| | Arachidyl Alcohol | 1,65 |
| | Tromethamine | 1,18 |
| | Cetyl Alcohol | 1,00 |
| 5 | Glycine | 1,00 |
| | Tocopheryl Acetate | 1,00 |
| | Behenyl Alcohol | 0,90 |
| | Squalane | 0,79 |
| | Sodium Citrate | 0,66 |
| 10 | PPG-12/SMDI Copolymer | 0,50 |
| | Arachidyl Glucoside | 0,45 |
| | Parfum | 0,40 |
| | Sclerotium Gum | 0,16 |
| | Cetearyl Alcohol | 0,13 |
| 15 | Citric Acid | 0,11 |
| | Sepigel 305* | 0.10 |
| | Système conservateur | QS |

*produit commercialisé par la société Seppic

20

25

Revendications

1. Procédé de préparation d'un extrait peptidique aqueux de maca, caractérisé en ce qu'il est effectué à partir de farine de tubercules de maca broyés, en ce qu'il comprend au moins une étape d'hydrolyse enzymatique des protéines.
2. Procédé de préparation d'un extrait peptidique hydrosoluble de tubercules de maca selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'hydrolyse est de type enzymatique.
3. Procédé de préparation d'un extrait peptidique hydrosoluble de tubercules de maca selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que l'hydrolyse est menée avec un mélange amylase et protéase.
4. Procédé de préparation d'un extrait peptidique hydrosoluble de tubercule de maca selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que le ratio amylase/protéase varie de 50/50 à 90/10.
5. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que l'extrait aqueux est ensuite concentré pour éliminer les insolubles.
6. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que l'extrait aqueux est ensuite purifié par ultrafiltration.
7. Procédé selon la revendication 6, caractérisé en

ce que l'ultrafiltration présente un seuil de coupure de 10 kD.

8. Extrait peptidique aqueux de maca susceptible
5 d'être obtenu par le procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 7.

9. Extrait peptidique aqueux de maca selon la
revendication 8, caractérisé en ce qu'il présente une
10 teneur en matière sèche comprise entre 1 et 300 g/l, de préférence entre 2 et 10 g/l.

10. Procédé de préparation d'un extrait peptidique
solide de maca, caractérisé en ce que l'extrait
15 peptidique aqueux selon la revendication 8 ou 9, éventuellement concentrée et/ou stérilisée est lyophilisé.

11. Extrait peptidique solide de maca susceptible
20 d'être obtenu par le procédé selon la revendication 10.

12. Extrait peptidique solide de maca selon la
revendication 11, caractérisé en ce que la teneur en
azote alpha aminé est comprise entre 2 et 70%.

25

13. Extrait peptidique solide de maca selon la
revendication 11 ou 12, caractérisé en ce qu'il
présente la composition en acides aminés suivante (en
pourcentage en poids par rapport au poids total
30 d'acides aminés) :

| | |
|------------------|---------|
| Alanine | 5-9 % |
| Arginine | 15-20 % |
| Acide aspartique | 8-12 % |
| Cystine-cysteine | < 2 % |
| Acide glutamique | 9-15 % |
| Glycine | 3-7 % |
| Histidine | 1-6 % |
| Isoleucine | 2-7 % |
| Leucine | 4-9 % |
| Lysine | 3-7 % |
| Methionine | 1-5 % |
| Phenylalanine | 4,9 % |
| Proline | < 1 % |
| Sérine | 2-8 % |
| Thréonine | 1-7 % |
| Tyrosine | 1-7 % |
| Valine | 4-10 % |
| Tryptophane | < 0,5 % |

14. Extrait peptidique de maca selon l'une quelconque des revendications 8 ou 9 et 11 à 13, utile pour la stimulation de la prolifération et la croissance des
5 cellules cutanées et plus particulièrement des fibroblastes.

15. Extrait peptidique de maca selon l'une quelconque des revendications 8 ou 9 et 11 à 13, utile pour
10 stimuler l'activité mitochondriale des cellules cutanées et plus particulièrement des fibroblastes.

16. Composition cosmétique caractérisée en ce qu'elle comprend un extrait peptidique de maca selon l'une quelconque des revendications 8 ou 9 et 11 à 13 et au moins un excipient cosmétiquement acceptable.

5

17. Méthode de traitement cosmétique pour prévenir et/ou lutter contre le vieillissement cutané, caractérisée en ce qu'elle consiste à appliquer sur la peau une composition selon la revendication 16.

10

18. Méthode de traitement cosmétique pour lutter contre les agressions extérieures, choisies parmi le soleil, le tabac, la pollution et le stress, caractérisée en ce qu'elle consiste à appliquer sur la peau une composition selon la revendication 16.

15

19. Utilisation d'un extrait selon l'une quelconque des revendications 8 ou 9 et 11 à 13 en tant qu'actif anti-vieillissement.

20

20. Utilisation selon la revendication 19 pour stimuler le métabolisme cellulaire et notamment des fibroblastes dermiques.

25

21. Utilisation selon la revendication 19 pour stimuler l'énergie cellulaire.

30

22. Utilisation d'un extrait selon l'une quelconque des revendications 8 ou 9 et 11 à 13 en tant qu'actif pour lutter contre la perte de tonicité et/ou d'élasticité de la peau et/ou pour lutter contre l'apparition de taches pigmentaires de sénescence.

1/4

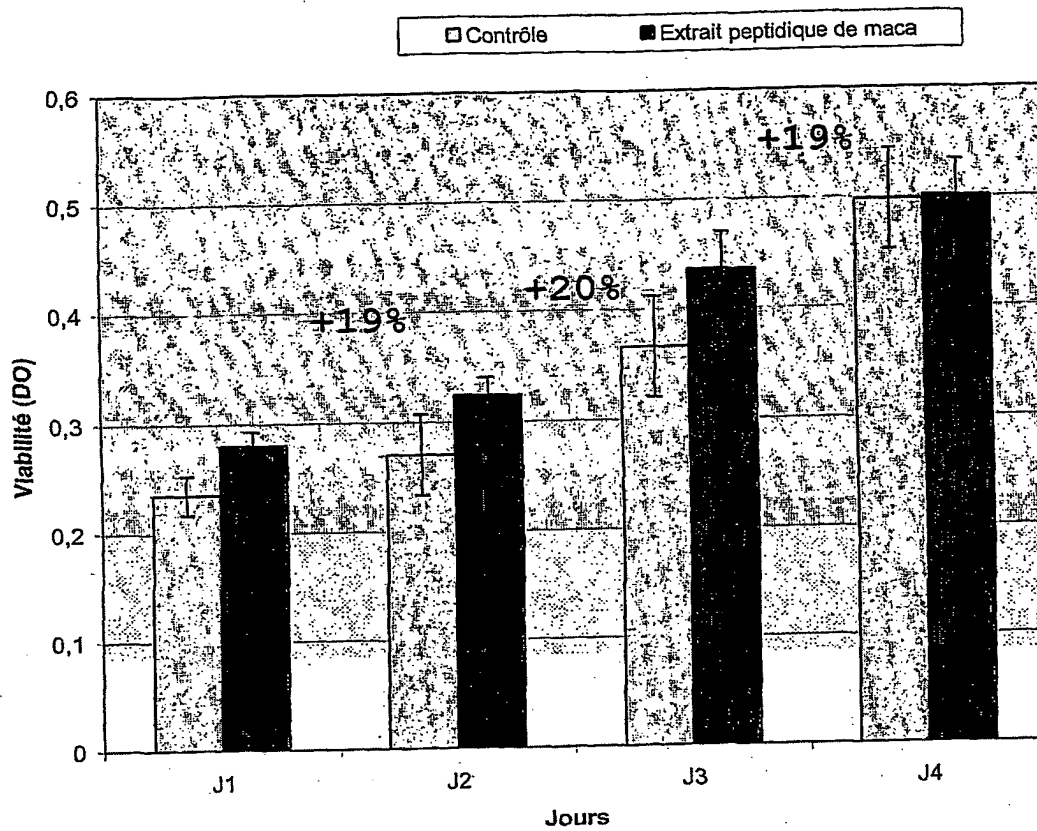


FIGURE 1

2/4

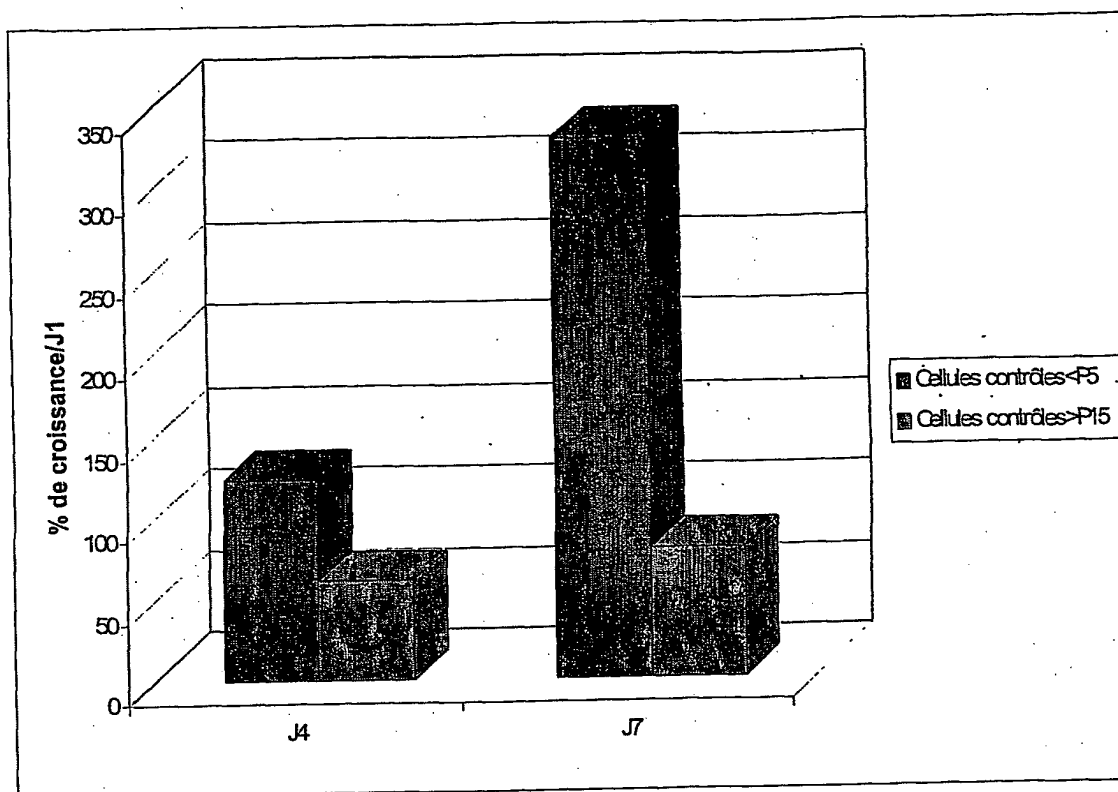
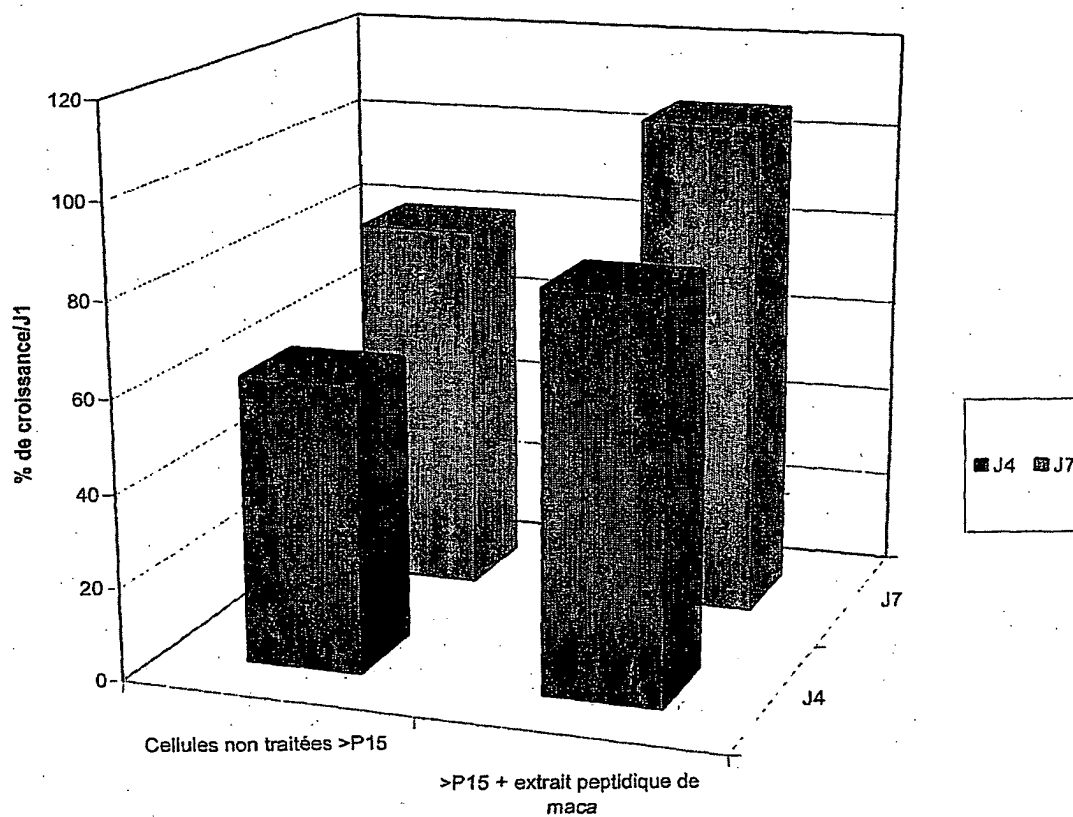


FIGURE 2

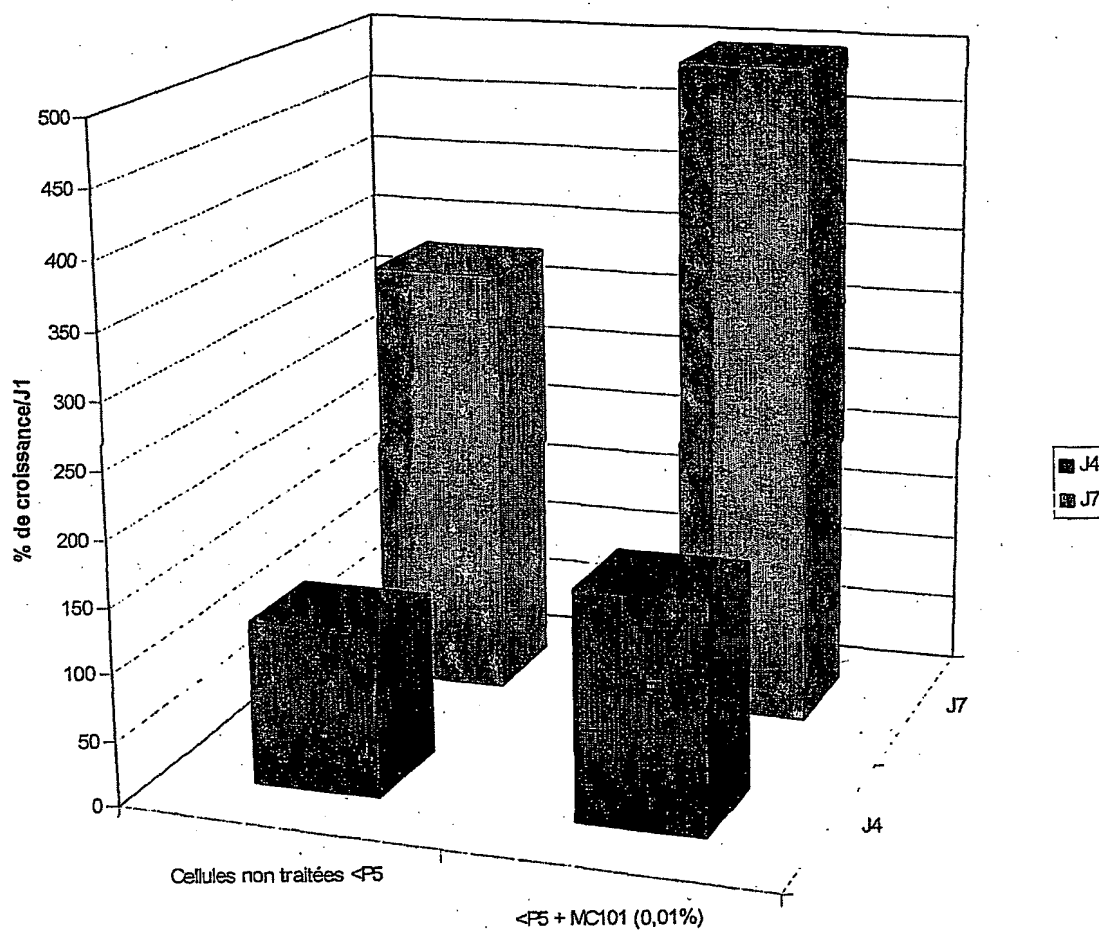
3/4



A) Fibroblastes « jeunes »

FIGURE 3A

4/4



B) Fibroblastes « âgés »

FIGURE 3B